



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

IZOLACE A CHARAKTERIZACE PŮDNÍCH GELŮ

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF THE SOIL GELS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE ONDŘEJ KUNDERA

AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE Ing. PETR SEDLÁČEK, Ph.D.

SUPERVISOR

BRNO 2015

ABSTRAKT

Tato práce se zaměřuje na gelotvorné složky obsažené v půdě, a to konkrétně na jejich izolaci a další charakterizaci pomocí elektronového mikroskopu a dostupných analytických metod (FT–IR spektrofotometrie, elementární a termická analýza). Poznatky z tohoto experimentu by měli přispět k lepšímu porozumění funkce těchto gelů v půdě, stejně tak jako jejich významu pro floru a faunu v půdě obsaženou. Teoretická část je zaměřená na huminové látky, protože na základě dosud publikovaných prací se předpokládá důležitá role těchto látek při tvorbě půdních gelů. Praktická část práce je věnovaná především optimalizaci metody izolace půdního gelu z půdy a jeho dalšímu zpracování a charakterizaci.

ABSTRACT

The aim of this study are the gel-creative components in soil, mainly the isolation and characterization using electron microscopy and available analytical methods like FT-IR spectrometry, elementary and thermogravimetric analysis. The knowledge from this study may help to define function and significance of this gels to soils and nature. The theoretical part of this thesis deals with humic substances which are, according to published articles so far, expected to play an important role in the formation of the soil gels. The experimental part solves especially the optimization of the method of isolation soil gels and his further characterization.

KLÍČOVÁ SLOVA

půdní gely, huminové látky, izolace, půda, gel

KEYWORDS

soil gels, humic substances, isolation, soil, gel

KUNDERA, O. *Izolace a charakterizace půdních gelů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 38 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Petr Sedláček, Ph.D..

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně a všechny použité literární zdroje jsem odcitoval správně a úplně. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování:

Mé poděkování patří Ing. Petru Sedláčkovi, Ph.D., a jeho nezdátne vytrvalosti při vypracování této práce, z které jsem načerpal mnoho užitečných zkušeností a rad, nejen ohledně experimentální činnosti.

OBSAH

1	ÚVOD	5
2	TEORETICKÁ ČÁST	6
2.1	PŮDA.....	6
2.1.1	<i>Definice půdy.....</i>	6
2.1.2	<i>Utváření půdy.....</i>	6
2.1.3	<i>Složení půdy.....</i>	6
2.1.4	<i>Dělení půd</i>	7
2.2	ORGANICKÁ FRAKCE PŮDY	9
2.2.1	<i>Huminové látky.....</i>	10
2.2.2	<i>Rozdělení huminových látek</i>	10
2.2.3	<i>Proces vzniku huminových látek</i>	12
2.2.4	<i>Složení huminových látek</i>	12
2.2.5	<i>Využití huminových látek.....</i>	14
2.3	ANORGANICKÁ FRAKCE PŮDY	15
2.3.1	<i>Obsah prvků v půdě.....</i>	15
3	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	17
3.1	VÝZKUM PŮDNÍHO GELU	17
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	19
4.1	OPTIMALIZOVÁNÍ POSTUPU IZOLACE PŮDNÍHO GELU	19
4.2	CHARAKTERIZACE PŮDNÍHO GELU	19
5	VÝSLEDKY A DISKUSE	21
5.1	OPTIMALIZACE POSTUPU IZOLACE PŮDNÍHO GELU	21
5.2	CHARAKTERIZACE PŮDNÍHO GELU	26
5.2.1	<i>Infračervená spektrometrie</i>	26
5.2.2	<i>Ramanova spektrometrie.....</i>	29
5.2.3	<i>Skenovací elektronová mikroskopie</i>	29
5.2.4	<i>Termogravimetrická analýza TGA.....</i>	31
5.2.5	<i>Elementární analýza.....</i>	32
6	ZÁVĚR.....	34
7	SEZNAM CITOVANÉ LITERATURY.....	35
8	SEZNAM ZTRATEK	38

1 ÚVOD

Zájem o půdní gel, jako nejmladší z rodiny půdních frakcí, se objevil před pár lety a již tehdy se do něj vkládaly velké naděje ohledně jeho funkce v utváření půdy a zajišťování půdních vlastností. V současné době probíhají výzkumy základních vlastností půdního gelu a jeho významu pro půdu jako takovou. Základ této gelové frakce půdy je s největší pravděpodobností tvořen všudypřítomnými huminovými látkami.

Huminové látky (HL) jsou organické molekuly vyskytující se na zemském povrchu v hojně míře. Jejich existence byla prokázána nejen v půdě, ale také v přírodních vodách, v mořských řasách a dokonce i v těle živočichů (např. v lidských játrech) [1]. HL vytváří s minerální složkou půdy organominerální sloučeniny, které uvolňují minerální ionty velmi pomalu, a proto slouží jako dobrá zásobárna živin v půdě. Mezi HL patří i huminové kyseliny (HK), které sehrávají v půdě důležitou roli. Struktura těchto kyselin se liší jednak podle místa odběru, ale také podle času odběru, jelikož HA mají schopnost měnit svoji strukturu v závislosti na podmínkách okolí. Tím se přizpůsobují teplotním změnám a zaujímají nejvýhodnější konformaci při daných podmínkách. Díky pokroku techniky se zkoumání těchto sloučenin v posledních letech velice zintenzivnilo. I přes velký zájem o toto odvětví je zde stále snaha o sjednocení jednoduchých metod charakterizace těchto sloučenin při absenci jednotného funkčního vzorce. Stejně tak struktura HL není jednoznačně určena a existuje několik názorů na tuto problematiku. Právě z těchto důvodů, se výzkum přírodní organické hmoty čím dál tím víc zaměřuje na zkoumání vlastností huminových látek [2].

Předpokládá se, že vysoký obsah huminových látek v půdě umožňuje také vznik tzv. půdních gelů, zajímavých a v poslední době stále intenzivněji studovaných gelových struktur, které se při vhodně nastavených experimentálních podmínkách samovolně uvolňují z půdy. Cílem této práce je rozšíření znalostí o charakteru půdního gelu, což by mohlo vést k lepšímu pochopení činností HL v půdě. Informace o charakteru a složení půdního gelu by také mohly vést k širšímu využití HL za účelem zlepšení kvality půd. V poslední době roste zájem o přírodní nosiče s postupným uvolňováním vloženého medikamentu, či chemikálie a právě pro tyto účely by mohly být HL více než vhodné.

Pro lepší přehlednost je bakalářská práce rozdělena do tří částí: teoretické, části zabývající se současným stavem řešené problematiky a praktické části. Teoretická část je zaměřena na obecné poznatky o půdě a huminových látkách. V části současného stavu řešené problematiky jsou shrnuty dosavadní studie o půdním gelu, metody, které byly použity a samozřejmě výsledky těchto zkoumání. Praktická část má za cíl optimalizovat metodu izolace půdního gelu a jeho další charakterizaci pomocí dostupných metod.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Půda

2.1.1 Definice půdy

Půda provází lidstvo od počátku věků a v každém období hrála a hraje důležitou roli nejen v otázce výživy. V tomto nenahraditelném „substrátu“ taktéž získáváme informace o životě našich předků a celkově o minulosti naší planety. Pohled na půdu jako celek měl svůj historický vývoj od statického pojetí neživých směsí hornin a organických zbytků k dnešnímu dynamickému pojetí na samostatný vyvíjející se útvar za přítomnosti půdotvorných činitelů. Obecně lze půdu považovat za hlavní přírodní zdroj, poskytující výživu, růst a oporu mnoha živočichům.

Půda je tvořena písčítými, hlinitými a jílovitými částicemi, které označujeme jako zrnitostní frakce. Podle toho, jaké frakce v půdě převažují, rozlišujeme různé půdní druhy. Pokud vynecháme jednotlivé extrémy, rozeznáváme tři základní druhy půdy: písek, prach a jíl. Půdní druhy můžeme rozdělit také podle zpracovatelnosti na lehké, střední a těžké půdy. Jaký druh půdy vznikne, závisí především na druhu matečné horniny, ze které půda vzniká a na způsobu vzniku. Půdní druh je velice důležitý parametr, který ovlivňuje další vlastnosti půdy, např. úrodnost půdy a náchylnost k erozi. S půdním druhem pak souvisí i hloubka půd, která vyjadřuje mocnost půdního profilu, kterou v určité hloubce omezuje (např. pevná skála nebo souvislá vrstva kamení a štěrku) [3].

2.1.2 Utváření půdy

Horniny, nacházející se na zemském povrchu nebo v jeho blízkosti, podléhají fyzikálním a chemickým změnám, kterými na ně působí voda, změny teploty atd. Tímto působením dochází k jejich rozrušování a rozpadu. Tento proces se označuje jako zvětrávání. Zvětrávání je ovlivněno klimatickými podmínkami (srážkovým a teplotním režimem) a vlastnostmi zvětrávaného materiálu (vnitřní strukturou, minerálním složením apod.).

Proces zvětrávání hornin, lze rozdělit do tří stupňů [4]:

- matečná hornina,
- půdotvorný substrát,
- půda,

kde ze zvětralin z matečné horniny vzniká půdotvorný substrát, který se v dalším kroku mění na půdu.

2.1.3 Složení půdy

Půda obsahuje všechny tři skupenství, pevnou, kapalnou i plynou. Tento třífázový disperzní systém má taktéž schopnost regulace vnitřních procesů v závislosti na vnějších povětrnostních podmínkách. V Tabulce 1 můžeme vidět další dělení fází [5].

Tabulka 1: Rozdělení půdních fází.

Pevná fáze	minerální část	mechanická disperze
		koloidní disperze
		molekulová disperze
	organická část	neživá - humus
		živá - edafon
Kapalná fáze	půdní roztok	
Plynná fáze	půdní atmosféra	

Pevná fáze

Pevná fáze je především tvořena půdotvorným substrátem, který se dělí na minerální a organickou část. Minerální část zastupuje zbytky hornin, z kterých se půda zvětřáním vytvořila. Živá organická část seskupuje rostlinné a živočišné organismy a do neživé složky nazývané humus řadíme organické sloučeniny v půdě obsažené [5].

Kapalná fáze

Kapalnou fází rozumíme různé druhy půdní vody. Drtivá většina půdní vody není chemicky čistá z důvodu rozpuštěných minerálů a organických sloučenin. Kvůli tomu je půdní roztok důležitou složkou v úrodnosti půdy [5].

Plynná fáze

Plynná fáze tvořená vzduchem je stálá součást půdy nazývaná půdní atmosféra, která se svým složením liší od námi dýchané atmosféry.

Nejdůležitější složkou půdní atmosféry lze považovat oxid uhličitý, který v půdě hraje nezastupitelnou roli. Při styku oxidu uhličitého s vodou se tvoří slabá kyselina uhličitá, která je rozpouštědlem mnoha minerálních sloučenin. Zdrojem oxidu uhličitého je především dýchání mikroorganismů a rozklad jejich ústrojných látek [5].

2.1.4 Dělení půd

Půdu dělíme dle zrnitostního složení na tři frakce: písek, prach a jílu. Částice písku mohou být tvořeny křemenem a úlomky křemičitanových hornin a živců. Písečná složka půdy zajišťuje dobrou propustnost půdy, voda se mezi částicemi rychle vsákne. Při vysokém obsahu písku jsou půdy dobře propustné a provzdušněné, za sucha ale rychle vysychají. Vegetačně jsou poměrně chudé.

Prach je tvořen částicemi střední velikosti mezi písčítými a jílovými částicemi. Prachové částice, které se nacházejí hlavně v půdách vytvořených na spraších, zajišťují dobré fyzikální vlastnosti a optimální poměr mezi obsahem vody a vzduchu. Z toho důvodu jsou hojně osídleny vegetací i živočichy.

V případě jílu se jedná o nejmenší částice, které negativně ovlivňují pórovitost půdy, vodní a vzdušný režim, obsah živin i živou složku půdy. Jílovité půdy jsou pro většinu vegetace příliš vlhké a málo provzdušněné [3].

Další dělení je na základě procentuálního obsahu částic menších než 0,01 mm na:

- Písčité → 0-10 %,
- Hlinitopísčité → 10-20 %,
- Písčitohlinité → 20-30 %,
- Hlinité → 30-45 %,
- Jílovitohlinité → 45-60 %,
- Jílovité → 60-75 %,
- Jíl → >75 %.

Především pro zemědělskou praxi se druhy půd označují jako:

- Lehké (půdy dobře propustné a provzdušněné, ovšem vysychavé),
- Střední (půdy s dobrou vodní a vzdušnou kapacitou),
- Těžké (půdy se špatnou propustností a nízkou biologickou aktivitou).

2.2 Organická frakce půdy

Za klíčovou složku organické hmoty v půdě jsou již několik desetiletí považovány huminové látky. Původ této organické hmoty, zejména kompozice a struktura huminových kyselin, vyskytujících se hlavně v koloidních frakcích půdy, se stal velmi diskutovaným problémem kvůli několika teoriím o jejich vzniku, kde ani jedna teorie nedává celkové vysvětlení o původu prvků v HL.

Věda o huminových látkách je v dnešní době už samostatným oborem. Bylo zde provedeno několik studií o syntéze HL. Problémem v nejednotném názoru se zdá být rozdílné složení jednotlivých látek. Obsahový rozsah některých prvků v huminových látkách vede ke kritickému pohledu na tyto látky jako přirozenou součást půdy. Jsou zde i názory které tvrdí, že huminové látky jsou pouze výsledkem separačních procesů při jejich získávání. Těmito hypotézám napomáhá i nesjednocení názvosloví sloučenin a procesy jejich získávání.

Podle Tyurina [6] se také rozcházejí názory ohledně chemického původu humusu – jestli je humus komplexní agregát sloučenin rostlinného i živočišného původu, nebo navíc obsahuje charakteristické sloučeniny, které se v živočišné a rostlinné říši nevyskytují. Zobecněním jeho výsledků se Tyurin přiklání k tomu, že vedle sloučenin z živočišné a rostlinné chemie, humus obsahuje také specifické komponenty z procesů vlastních pro humus, ale ne pro živou přírodu.

Mnozí sdíleli Tyurinův názor a HL půd byly definovány ve většině vědeckých monografií a návodu jako komplex specifických vysokomolekulárních dusíkatých aromatických sloučenin kyselého původu. Byly vyvinuty postupy izolace HL z půd a jejich separace v alkáliích a kyselinách na HK, fulvinové kyseliny (FK) a nerozpustný humin (HU). Byly provedeny mnohé experimentální studie zabývající se charakterizací kompozice a vlastností HK a FK, jejich elementární skladbou, optickými a hydrofilními resp. hydrofóbními vlastnostmi, molekulární hmotností a určením struktury fragmentů HL v různých typech půd [6].

Všechny tyto poznatky podstatně rozšířili znalosti o organické půdní hmotě a její důležitou roli v procesu formování půdy a její úrodnosti. Nicméně i dnes zůstává specifická HL jako separované složky z organických sloučenin nevyřešená.

Pochybnosti ohledně specifity HL jako dílčí chemické sloučeniny jsou založeny na jejich mnoha prvkových variacích v různých typech půd a v odlišnosti ve stupni disperze, molekulové hmotnosti a dalších vlastnostech. Na druhé straně, specifická HL je podpořena jejich stabilitou jako přírodních sloučenin; neporušenost půdního humusu po miliony let v starověkých a skrytých půdách, stejně tak jako typický podíl HK/FK v různých půdních typech charakterizuje odezvu HL na změny půdotvorných podmínek v přírodně rozmanitých oblastech.

Je evidentní, že HL vystupuje v půdním gelu, a složitost a heterogenita HL pobízí k tomu, že se mohou vyskytovat v gelech ve formě různých asociátů a doplňků. Nicméně experimentální metody doposud nedokázaly prostudovat HL a půdní gely na dostatečně vysoké úrovni aby dokázali odpovědět na objevující se otázky [6].

2.2.1 Huminové látky

2.2.2 Rozdělení huminových látek

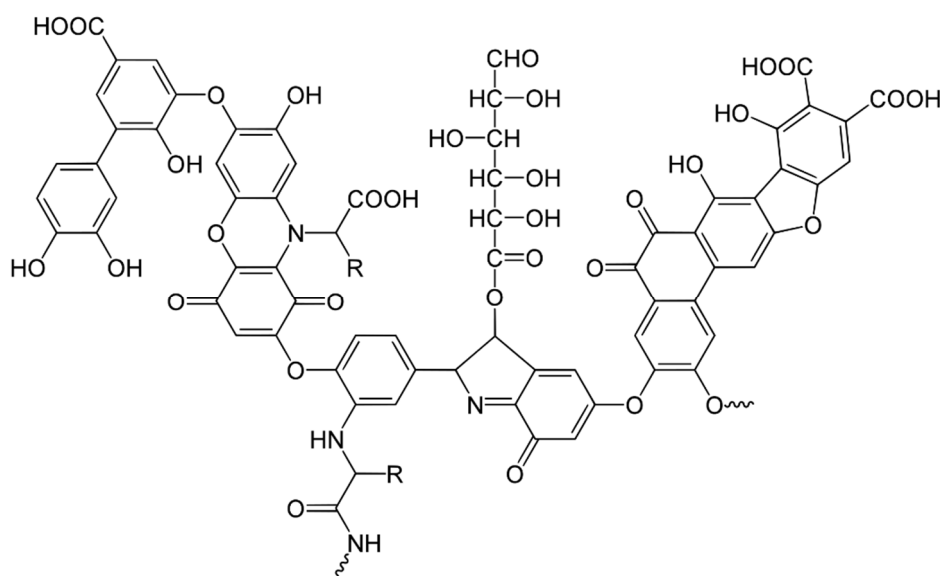
Klasifikace huminových látek započala roku 1839 ve Švédsku jedním z "otců chemie" Jönsem Jacobem Berzelieusem. První klasifikace dělila sloučeniny pouze podle rozpustnosti v alkalickém a kyselém prostředí [7]. Z toho vznikly 3 frakce HL:

- *huminy* (HU), látky, které nelze převést do roztoku, protože jsou ve vodném roztoku nerozpustné bez ohledu na jeho pH,
- *fulvinové kyseliny* (FK), látky rozpustné jak v alkalickém tak v kyselém prostředí,
- *huminové kyseliny* (HK), látky rozpustné v alkalickém prostředí ovšem v silně kyselém prostředí dochází k jejich vysrážení.

Stěžejní faktor ovlivňující rozpustnost těchto látek je následující. V případě HK při silně kyselém prostředí, jsou funkční skupiny (zejména karboxylová a fenolická) naprotonizovány a tudíž nejsou disociované, což způsobuje, že při nízkých pH jsou tyto látky nerozpustné. V případě FK je důvod zřejmý z molekulové hmotnosti a obsahu různých funkčních těchto kyselin.

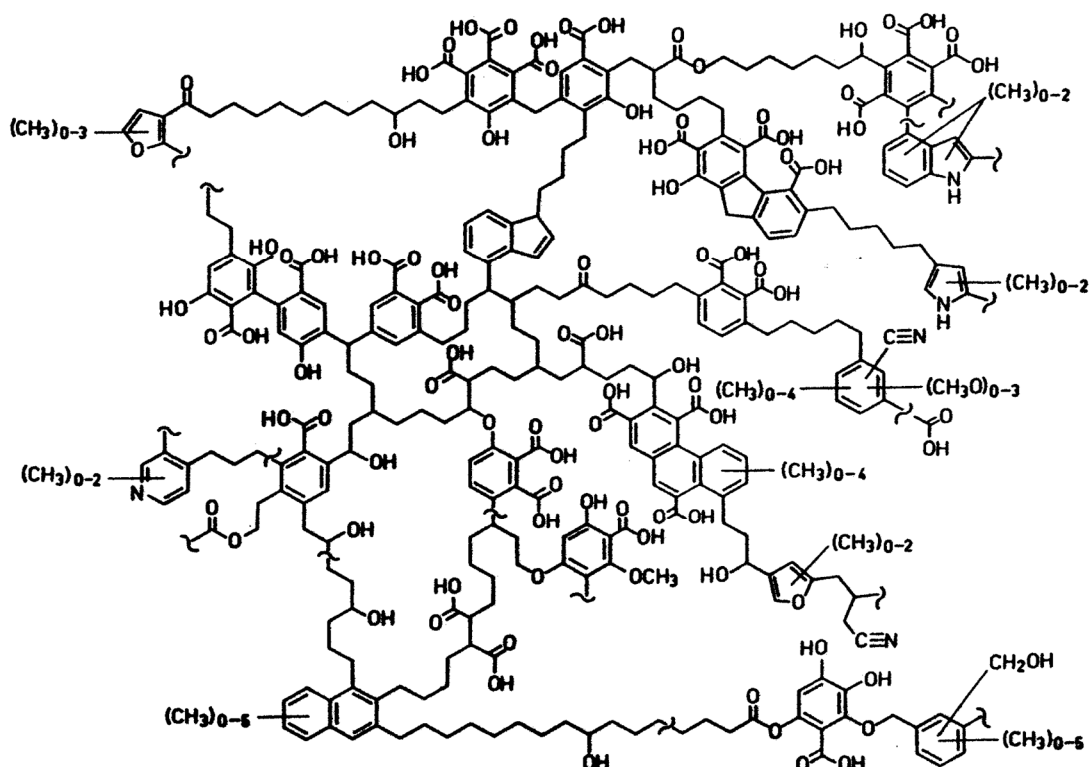
Další odlišnost lze najít v zabarvení; FK jsou zabarveny spíše do žluté, která u HK přechází do hnědé a HU jsou zpravidla černé. Stejně rozdíly panují i v molekulových hmotnostech, kde FK řadíme mezi nízkomolekulární látky a HK společně s HU řadíme mezi vysokomolekulární. Tyto rozdíly jsou tvořeny především obsahem aromatických cyklů v molekule, stejně tak jako obsahem funkčních skupin.

První návrhy struktury byly publikovány v 80. letech 20. století Stevensonem a Haworthem (viz Obrázek 1).

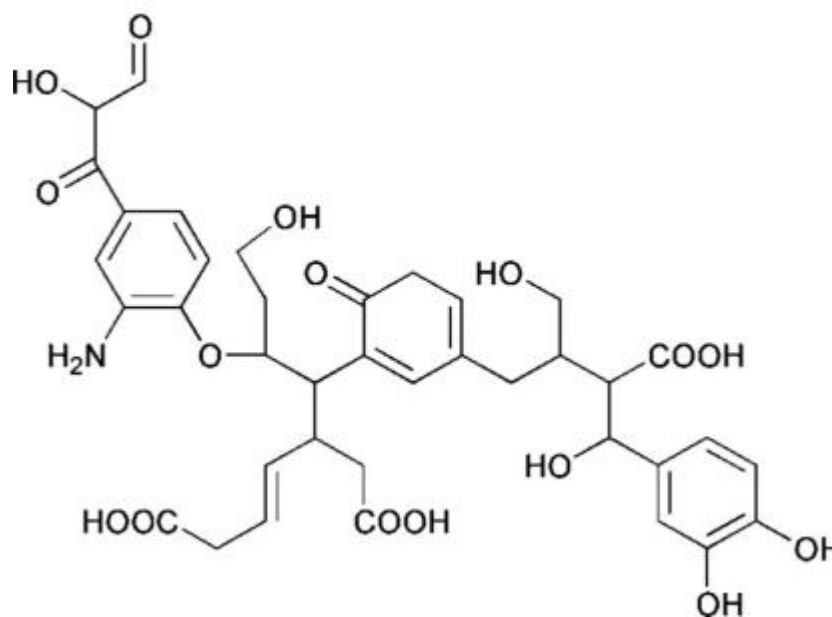


Obrázek 1: Návrh struktury HK podle Stevensona.

Po těchto prvotních pokusech o objasnění struktury následovaly další alternativní návrhy, například v roce 1992 byla publikována složitá uhlovodíková struktura od Schnitzera a Schultena [8], která je vyobrazena na Obrázku 2.



Obrázek 2: Struktura HK dle Schnitzera a Schultena.



Obrázek 3: Publikovaná struktura HK podle Steelinka a spol. [9].

Tyto struktury zastupují spíše zastaralé pohlížení na tyto látky jako na makromolekuly ve formě polymerů. Díky pokroku ve vědě, především v analytických metodách, novější pohledy na strukturu zastávají názor, že huminové látky jsou molekuly složené z více druhů nízkomolekulárních agregátů, které jsou vázány pouze slabými interakcemi jako např.: hydrofóbní interakce, van der Waalsovy síly a vodíkové můstky [10]. To podporuje

dvoustupňovou teorii vzniku HL, kde nejdřív látky podstupují biodegradaci a poté asociují do nízkomolekulárních agregátů pomocí zmíněných slabých nevazebných interakcí [11]. Model nízkomolekulární stavební jednotky HK, navržený Steelinkem roku 1997, je uveden na Obrázku 3.

2.2.3 Proces vzniku huminových látek

Proces transformace organické hmoty v půdě na humus se nazývá humifikace. Humifikace probíhá dvěma způsoby [12-15].

1) Degradáční způsob humifikace spočívá v přeměně biopolymerů na humin, který degraduje na HL. Stěžejní část degradace zahrnuje pouze rozklad nestabilních makromolekul za účasti mikroorganismů. Stabilní makromolekuly (lignin, melanin atd.) zůstávají zachovány a pomocí této degradace získávají vyšší obsah funkčních skupin. Při další degradaci dostáváme sloučeniny s nižší molekulovou hmotností ale vyšším obsahem funkčních skupin.

2) Kondenzační způsob se liší od degradačního tím, že předpokládá rozklad biopolymerů až na monomery, ze kterých vychází tři druhy kondenzace HL.

Kondenzační teorie polynenasycených struktur popisuje vznik HL z polynasycených látek jako mastných kyselin, alkenonů a karotenoidů. Teorie ovšem nevysvětluje obsah dusíku ve strukturách HL.

Polyfenolová cesta kondenzace předpokládá reakci chinonu s amoniakem a amonikyselinami. Právě díky této reakci je vysvětlen obsah dusíku v HL a zdroj chinonů je doložen jako degradace ligninu, řas a mikroorganismů.

Základem *melanoidinové* kondenzace je reakce monomeru redukujících cukrů s aminokyselinami, poté produkt podstupuje ještě další reakce jako cyklizace a dekarboxylace. Produktem jsou melanoidiny které svou hnědou barvou připomínají HL.

2.2.4 Složení huminových látek

Jak již bylo zmíněno, HL se dělí podle rozpustnosti na 3 frakce a to:

Fulvinové kyseliny, též fulvokyseliny jsou méně polydisperzní a více hydrofilní látky vzhledem k HK. Mají vysokou chemickou a chemicko-fyzikální aktivitu, díky jejich rozpustnosti ve vodných roztocích prakticky v celém rozsahu pH [16].

Huminové kyseliny, jsou látky s hydrofobními i hydrofilními oblastmi. Vysoký obsah těchto oblastí zapříčiňuje vysokou rozpustnost a třeba i koagulační vlastnosti. V půdě zastávají roli redoxních činitelů s mnoha pozoruhodnými vlastnostmi např. schopnost agregace a konformační změny v závislosti na okolních podmínkách.

Huminy, jsou tmavou částí HL, které nejsou rozpustné ve vodě. Obsahují biopolymery jako lignin a složité polysacharidy, minerálně vázané lipidy a látky podobné huminovým kyselinám a aromatickým uhlovodíkům. Důvod jejich nerozpustnosti ve vodě zatím není objasněn [17].

V následujícím Obrázku 4 jsou zobrazeny barevné přechody huminových látek, jejich rozpustnost a obsahu uhlíku a kyslíku.

2.2.5 Využití huminových látek

Využití těchto látek úzce souvisí s jejich výskytem. Hojně se vyskytují v zeminách, rašelině, hnědém uhlí, lignitu, v listech rostlin apod.

Stěžejní využití HL, které provází lidstvo již dlouhá staletí, není žádné jiné než zemědělské. Právě díky různorodé úrodnosti půdy začal dlouhý běh za poznáním těchto rozmanitých sloučenin. Následné využití díky pokroku techniky se ubíralo spíše technickým rázem a to spalováním vhodných fosilních paliv. Současný trend ekologického smýšlení od tohoto využití značně upouští. V posledních letech bádání vědců v oblasti HL přineslo možnost farmaceutického využití. A právě díky vysoké schopnosti sorpce těchto látek jsou využívány v oblasti ochrany životního prostředí.

V zemědělství pomáhají HK k zadržování a přenosu vody, živin a k vytváření pórů. Tím pomáhají růstu mikroflóry. Nepřekvapivě to jsou aditiva hnojiv, především jako vápenaté soli s dalšími sloučeninami s obsahem HL.

Schopností vázat nejen těžké kovy se využívá v ochraně životního prostředí při čištění půd a vod. Další výhodou tohoto využití je i možnost odstranění pesticidů, kyanidů a barviv pomocí HL.

Zbarvení HL nahrává využití v textilním, kožedělném a papírenském průmyslu jako barviva. Právě toto zbarvení je na druhou stranu problém ve farmaceutickém průmyslu, jelikož se nedá odstranit standardními postupy bělení. Stejně tak jako případná mutageneze DNA limituje tyto látky v širokospektrálním rozšíření [21].

2.3 Anorganická frakce půdy

2.3.1 Obsah prvků v půdě

Prvky v zemské kůře dělíme dle zastoupení na makroelementy a mikroelementy. Makroelementy jsou důležité pro procesy jako transport kyslíku, elektronů atd. Mikroelementy jsou všechny ostatní prvky, zpravidla ve stopovém množství. Mikroelementy lze dále rozdělit na esenciální (nezbytné pro růst rostlin) a doplňkové (biochemicky neznámé). V Tabulce 4 jsou uspořádány prvky podle průměrného procentuálního obsahu v půdě [22].

Tabulka 4: Procentuální zastoupení prvků v půdě.

Prvek	%	Prvek	%	Prvek	%
O	49,0	K	1,8	N	0,2
Si	33,0	C	1,4	P	0,08
Al	6,7	Na	1,1	Mn	0,08
Fe	3,2	Mg	0,8	S	0,04
Ca	2,0	Ti	0,5	Cu	0,002

Z tabulky lze vyčíst, že skoro polovina obsahu půdy je tvořena kyslíkem a jedna třetina křemíkem. Tyto dva prvky se v půdě nacházejí ve formě křemičitanů, které pocházejí z matečné horniny.

Realističtější pohled na výskyt makroelementů v půdě nám podává Tabulka 5, kde jsou prvky vyobrazeny v jejich nejčastěji vyskytujících se chemických formách v půdě [22].

Tabulka 5: Chemické formy půdních makroelementů.

Prvek	Chemická forma
Draslík	K^+
Dusík	NO_3^- , NH_4^+
Fosfor	$H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-}
Hořčík	Mg^{2+}
Kyslík	O^{2-} , OH^-
Sodík	Na^+
Uhlík	HCO_3^- , CO_3^{2-}
Vápník	Ca^{2+}
Vodík	H^+

Taktéž mikroelementy se v půdě vyskytují v různých chemických formách, které jsou shrnuty v Tabulce 6 [22].

Tabulka 6: Chemické formy půdních mikroelementů.

Esenciální prvky	Chemická forma	Neesenciální prvky	Chemická forma
Bor	H_3BO_4	Hliník	Al^{3+} , $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$
Chlor	Cl^-	Kadmium	Cd^{2+}
Měď	Cu^{2+}	Kobalt	Co^{2+}
Železo	Fe^{2+} , Fe^{3+}	Olovo	Pb^{2+}
Mangan	Mn^{2+}	Rtut	Hg^{2+}
Molybden	MoO_4^{2+}	Nikl	Ni^{2+}
Síra	SO_4^{2-}	Selen	SeO_4^{2-}
Zinek	Zn^{2+}	Křemík	SiO_2

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

3.1 Výzkum půdního gelu

Vědeckých poznatků a studií o půdním gelu není mnoho, přesto tu najdeme malou základnu informací o této zajímavé složce půdy. Výzkumu půdního gelu se soustavně věnuje především vědecký tým prof. Fedotova, který zatím provádí základní výzkum. Zabývají se především strukturou a hledají odlišnosti mezi půdou a půdním gelem, které by poskytovali informaci o jeho unikátnosti mezi půdními frakcemi. Chybí zde zatím celkový pohled na půdní gel, kde by nebylo v zájmu studovat složení ale jeho reaktivitu a funkci v půdě.

Informace o izolaci půdního gelu v člancích jsou většinou podávány stroze. Takřka pár odstavců, ve kterých je jednoduše vysvětlen princip izolace, opravdu nepostačuje k úspěšné reprodukci provedených pokusů. Proto tato práce řeší i optimalizaci metody izolace. Teoretické základy izolace jsou ve všech pracích, nejen prof. Fedotova stejné, ovšem praktické znalosti izolace pravděpodobně pochází z reference [23].

V referenci [24] bylo zjištěno, že rozmístění železa v půdním gelu je vcelku uniformní. To je pravděpodobně způsobeno tím, že půdní gely mají ve své struktuře minerály, které mohou oxidovat železo během procesu přípravy vzorků. Dále je zde uvedena myšlenka, že tvorbu půdního gelu omezuje jak vegetace, tak činnost mikroorganismů. Pokud se zaměříme na tabulku obsahu těžkých kovů v půdě, tak za povšimnutí stojí jejich poměrový obsah v půdě a v půdním gelu. Zpravidla je obsah kovů v půdě mnohem nižší než v gelu a to v řádech desítek až tisíců vyjma zinku, který má přesně opačnou tendenci.

Skenování půdních agregátů pomocí EPMA (Electron Probe Microscopy Analyzer) neprokázalo rozdíly v chemické skladbě a neověřilo existenci mikroagregátů s rozdílnou elementární skladbou. Doposud zveřejněné experimentální výsledky poukazují na existenci několika typů půdních gelů v půdě, ovšem podstata těchto gelů je stejná napříč všemi typy půd. Původ heterogenity zatím není objasněn.

V další práci byly studovány minerální částice (hrubozrnné a jemnozrnné) pomocí EPMA a digitalizované za účelem získání chemické kompozice vyjádřené pomocí hmotnosti a atomového zastoupení. Vzorky byly analyzovány pro majoritní oxidy: SiO_2 , Al_2O_3 , Na_2O , MgO , K_2O , CaO , Fe_2O_3 , a pro minoritní oxidy: P_2O_5 , TiO_2 a SO_3 . V tomto měření ovšem není zahrnuto procentuální zastoupení hydrogenovaných iontů, hydroxidů, fluoru a boru, které není možné pomocí EPMA zanalyzovat. Analýza ukázala, že pro gely z černozemě, podzolové půdy a lesní půdy jsou majoritními minerály křemíkové, živcové a jílovité [25].

V další studii autoři podrobili půdní gel centrifugaci. Specifikace centrifugace a podrobné výsledky jsou uvedeny v referenci [26]. Celkově lze říci, že pro různé typy půd, jsou různé výsledky centrifugace. Ovšem souhrnně výsledky ukazují, že komplexní, vztahy pozorované se zvyšujícím se číslem rpm a časem centrifugace, mohou být vysvětleny heterogenitou mikro- a submikronových částic a jejich schopností degradace na frakce, které mohou mezi sebou interagovat jako odpověď na mechanické jevy.

V referenci [27] byla použita nová metoda pro studium půdy; AFM (Atomic Force Microscopy). Tato metoda by měla pomoci vytřídit částice existující v půdních roztocích, určit strukturu generovanou pomocí interakcí mezi částicemi, a měla by pomoci porozumět funkci fulvinových a huminových kyselin na minerálním povrchu. Mezi výsledky pro černozem a podzolovou půdu je velký rozdíl, který tkví ve struktuře půdního gelu. Pro podzolovou půdu můžeme usuzovat slabší soudržnost gelu a jeho vyšší potenciální mobilitu. Naproti tomu v lesní půdě a černozemi soudržnost gelu stoupá se zvyšujícím se procentem humusu.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Optimalizování postupu izolace půdního gelu

Vlastní optimalizace postupu byla součástí práce, takže se jí věnuje následující kapitola (viz 5.1). Finální postup, použitý při sběru vzorků pro další charakterizaci, je následující: vzorek byl odebrán z travnaté plochy a zbaven všech rostlinných zbytků a usušen. Zcela usušená půda s různými velikostmi částeczek byla hydratována na Büchnerově nálevce 10 minut a poté byla okamžitou změnou hydrostatického tlaku (viz. aparatura na Obrázku 6) zvýšena hladina vody nad úroveň navrstvené půdy a na hladině se vytvořila souvislá vrstva půdního gelu (viz Obrázek 7). Tento gel byl odebírán na základě přirozené adheze k podkladovému materiálu, který byl uveden v kontakt s půdním gelem na hladině vody. Podkladový materiál pro odběr gelu tvořilo mikroskopické podložní sklíčko nebo destička z čistého křemíku. Pro spektroskopickou a termickou analýzu bylo postupným opakováním tohoto postupu vždy pro čerstvý vzorek půdy shromážděno a zhomogenizováno cca 30 mg práškového zbytku po vysušení půdního gelu.

4.2 Charakterizace půdního gelu

Charakterizace probíhala za použití dostupných metod a přístrojů na Fakultě chemické VUT. První námi zvolená metoda byla infračervená spektrometrie. Infračervenou spektrometrii řadíme do skupiny nedestruktivních analytických metod, kdy zkoumaný vzorek poskytuje informaci o svém složení bez toho, aby byl poškozen. Získané hodnoty vibračních energií souvisí s pevností chemických vazeb, molekulovou geometrií a také s molekulovou strukturou. Používaný byl přístroj Nicolet iS50; byly použity techniky měření ATR (realizovaná na jbednodrazovém diamantovém ATR krystalu) a DRIFT (za použití přídatného DRIFT modulu SpectraTech). Spektra práškových vzorků získaných vysušením půdních gelů byla měřena v rozsahu $4\,000 - 400\text{ cm}^{-1}$ v rozlišení 8 cm^{-1} a výsledné spektrum bylo stanoveno jako průměr vždy nejméně 64 skenů (s ohledem na použitou techniku měření).

Další použitá metoda byla Ramanova spektrometrie. Ramanova spektrometrie je metoda, při které se měří rozptýlené záření, vznikající interakcí monochromatického záření s molekulami vzorku za změny jejich vibračních a rotačních stavů. V této technice rozeznáváme dva rozptyly: Rayleighův a Ramanův. Při Rayleighově rozptylu foton nepředává molekule energii a pouze změní směr vlivem pružné srážky s molekulou. Naopak při Ramanově rozptylu foton interaguje s molekulou, která vyzáří foton s menší energií. Energie, kterou foton předá molekule je spotřebována na zvýšení vibračního stavu molekuly. Pokus o změření Ramanova spektra vysušeného půdního gelu byl realizován opět na FT-IR spektrometru Nicolet iS50 s integrovaným FT-Ramanským modulem (inicializační laser o vlnové délce $1\,064\text{ nm}$ a o výkonu $0,5\text{ mW}$).

Mikrofotografie a informace o elementárním složení gelu nám poskytl skenovací elektronový mikroskop ZEISS EVO LS 10 vybavený detektorem zpětně odražených elektronů. SEM analýza byla provedena s využitím vysušeného vzorku gelu na Si sklíčku. Dále byl vzorek podroben termogravimetrické analýze na přístroji TGA Q5000 od výrobce TA Instruments, a to především pro zjištění relativního obsahu organické resp. anorganické frakce. Práškový vzorek byl ohříván do 700 °C s rychlostí ohřevu 10 °C/min . Podrobením

vzorku elementární analýze na přístroji EuroVector EA3000, byl zjištěn procentuální obsah prvků C, H a N v organické složce gelu.

Podrobné výsledky z každé metody a optimalizace izolace půdního gelu jsou uvedeny v následující kapitole.

5 VÝSLEDKY A DISKUSE

5.1 Optimalizace postupu izolace půdního gelu

Vzorky půdy byly odebírány z travnaté plochy, kde nebyly použity žádné hnojiva a byla celoročně porostlá trávou (GPS: 49,846N, 16,292E). Při odběru vzorků se zasahovalo maximálně 10 cm pod horizont. Sušení půdy probíhalo buď v sušárně při maximálně 50 °C, nebo volně na vzduchu (případně byly kombinovány oba postupy).

Z literární rešerše vyplynulo, že nezbytným předpokladem pro úspěšnou izolaci půdního gelu je dosažení resp. překročení maximální kapilární vlhkosti použitého vzorku půdy. Při první experimentální izolaci byly testovány dva způsoby: přikapávání vody na hlínu v Petriho misce, resp. nasávání vody hlínou přes Büchnerovu nálevku.

Oba dva způsoby zahrnovaly hydrataci suché půdy a následně prudké zvýšení objemu vody k vyplavení půdního gelu na hladinu. Při prvním způsobu bylo na půdu v Petriho misce postupně nakapáváno malé množství vody a půda se hydratovala. Konec hydratace nastal v okamžiku, kdy půda byla vodou plně nasycena. Následovalo zvýšení vodní hladiny jednorázovým přidavkem vody na 2–3 cm nad povrch půdy. Na hladině se vytvořil tenký, průhledný film (viz Obrázek 5).



Obrázek 5: Petriho miska s půdním gelem na hladině.

Druhý způsob byl převzat z reference [23], kde se půda hydratovala přes Büchnerovu nálevku. Do Büchnerovy nálevky byla vložena půda a do propojené nálevky se přiváděla voda, kterou půda kapilárně nasávala. Aparaturu tohoto postupu lze vidět na Obrázku 6.



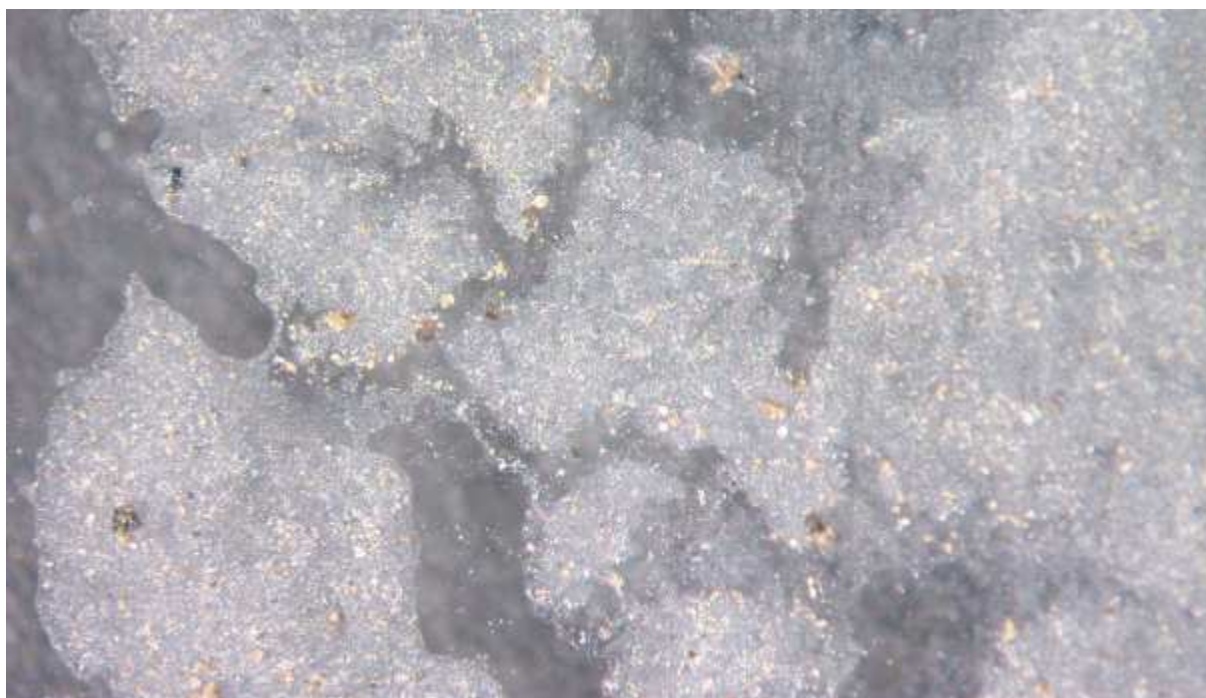
Obrázek 6: Aparatura kapilárního nasávání.

Při obou způsobech bylo dosaženo tenkého plovoucího filmu na hladině vody – půdního gelu. Achillova pata v prvním postupu byla v množství vody potřebné na hydrataci a znečištění vystoupeného gelu. Při hydrataci pomocí kapek vody se půda hydratovala nerovnoměrně a přidáním většího množství vody pro vystoupení gelu, se částčky půdy vířily ve vodě a zachytávaly na půdní gel. Druhý postup má výhodu v tom, že půda si kapilárně nasaje potřebné množství vody a hydratuje se rovnoměrně a při zvyšování hladiny je gel méně znečištěný. Proto byl v navazujících experimentech pro izolaci vzorků gelu použit druhý postup.

Odebrání gelu bylo prováděno na podložní sklo nebo na křemenné sklo pouhým dotykem skla na hladinu vody. Půdní gel se na obě dvě sklíčka dobře přichytil a dále byl sušen v sušárně při maximálně 50 °C. Odebraný gel z hladiny lze vidět na Obrázku 7 a na Obrázku 8 je uveden vzorek gelu po vysušení.



Obrázek 7: Ukázka odebraného gelu ve vlhkém stavu.



Obrázek 8: Usušený gel na podložním sklíčku.

Vizuálně byla sledována i rychlost uvolnění gelu z hydratované půdy . Tento experiment prokázal, že půdní gel se objeví na hladině již po krátké chvíli (v řádu sekund) od absolutního kapilárního nasátí vody. I přesto byl v dalším postupu vzorek půdy hydratován po dobu 10 minut, aby byla zajištěna plná hydratace vzorku a uvolnění maximálního možného množství gelu.

Jak bylo vizuálně ověřeno při prvních experimentálních odběrech, klíčový vliv na kvalitu a množství odebraného gelu má zdrojová půda. Konkrétní vliv vegetace a srážkové historie půdy zůstává otázkou pro podrobnější experimentální studii, nicméně jisté poznatky v této oblasti byly získány již v rámci realizovaných experimentů. Pro jeden z použitých vzorků půdy se půdní gel podle zmíněného postupu nevytvořil. Odběr tohoto vzorku byl z oblasti bez vegetace a v období po hojných srážkách. To naznačuje, že důležitou klíčovou složkou půdních gelů by mohly být organické látky rostlinného původu, dostatečně rozpustné, aby podléhaly srážkovému vyplavení z půdy. Každopádně, tyto vlivy budou podrobeny dalšímu zkoumání v navazující experimentální práci.

Další cenou informací poskytl pokus o obarvení gelu. Gel se barvil hydrofilními barvivami (methylenová modř, rhodamin 6G), což potvrzuje jeho očekávaný hydrofilní charakter. Zajímavý byl vliv barvení na strukturu gelu – gel obarvený jakýmkoliv z obou testovaných iontových barviv měl „pevnější“ okraje. Fotky z pokusu o obarvení gelu naleznete v příloze.

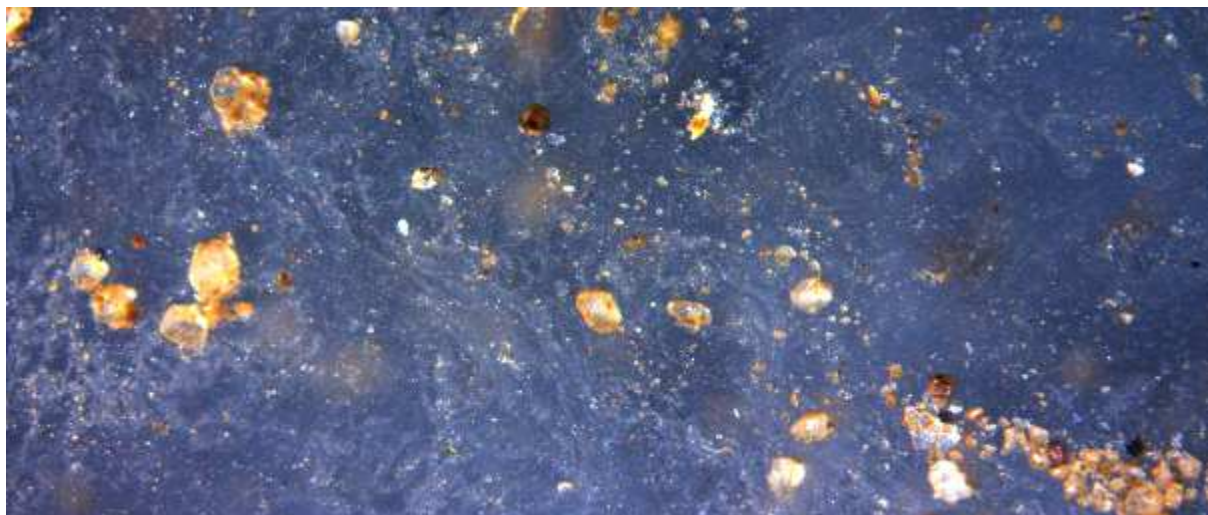
Byl také testován vliv kvality vody použité pro hydrataci půdního vzorku. Kromě použití deionizované vody (systém MiliQ), byl postup opakován i s použitím nepřečištěné vodovodní vody. Gel izolovaný hydratací nepřečištěnou vodou měl obdobně „pevné“ okraje jako při použití barviva. Pravděpodobně se toto „zpevnění“ děje kvůli zvýšené iontové síle roztoku, způsobené ať již přidavkem iontového barviva, nebo v důsledku rozpuštěných minerálních iontů přirozeně se vyskytujících v řádové vodě.

Další otázkou, na kterou se optimalizační experimenty zaměřily, je to, zda je hydratační uvolnění gelotvorných látek společné i pro další přírodní materiály s vysokým obsahem huminových látek. Proto byl izolačnímu postupu podroben také lignit, který obsahuje huminové látky ještě ve větším obsahovém množství než půda (řádově desítky hmotnostních procent). Nicméně, při hydrataci se projevila jeho vysoká hydrofóbnost a lignit kapilárně vodu nenasával, to lze vidět na Obrázku 9, kde jsou patrné obalené kapky vody lignitem.

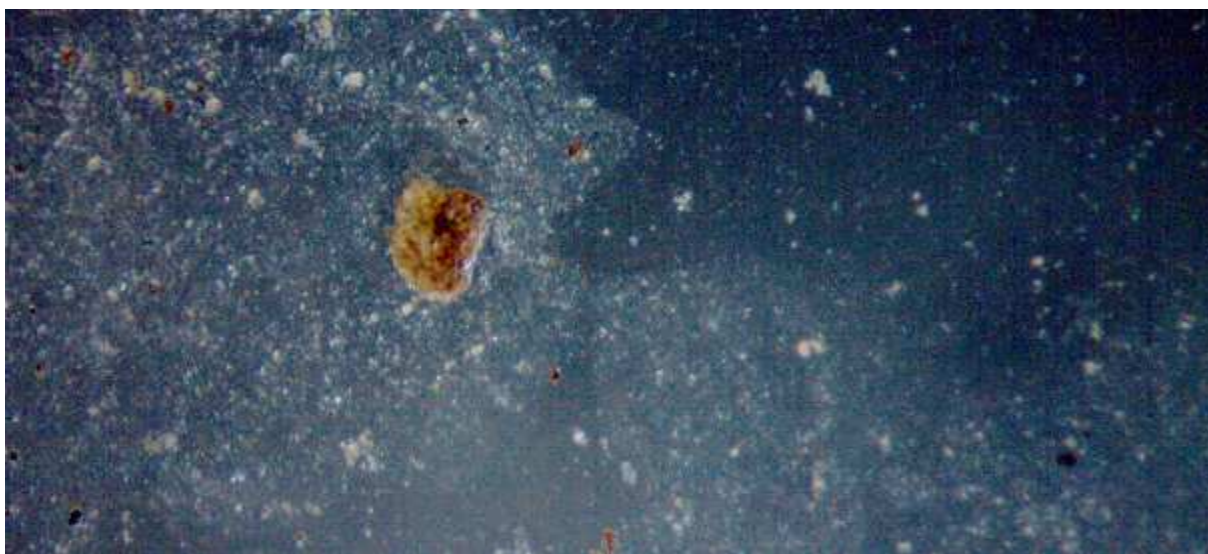


Obrázek 9: Hydratace lignitu.

I když je povrchově aktivní tak ani po dvou týdnech hydratace se nevytvořil půdní gel. Jinak tomu bylo s půdou, do níž byl jako podpůrný půdní prostředek aplikován analogický lignit. Při použití této půdy se půdní gel vytvořil, nicméně vykazoval určité strukturní odlišnosti. I přes znečištění lze vidět spojitou mozaikovou strukturu na Obrázku 10, oproti „klasickému“ gelu na Obrázku 11.



Obrázek 10: Půdní gel z půdy s přídavkem lignitu.



Obrázek 11: Půdní gel na vodní hladině.

Odebráním gelu na skleněnou případně křemíkovou destičku a jeho sušení ukončilo proces izolace a následovala jeho charakterizace. Na Obrázku 12 lze vidět odebraný usušený půdní gel na křemíkové destičce.

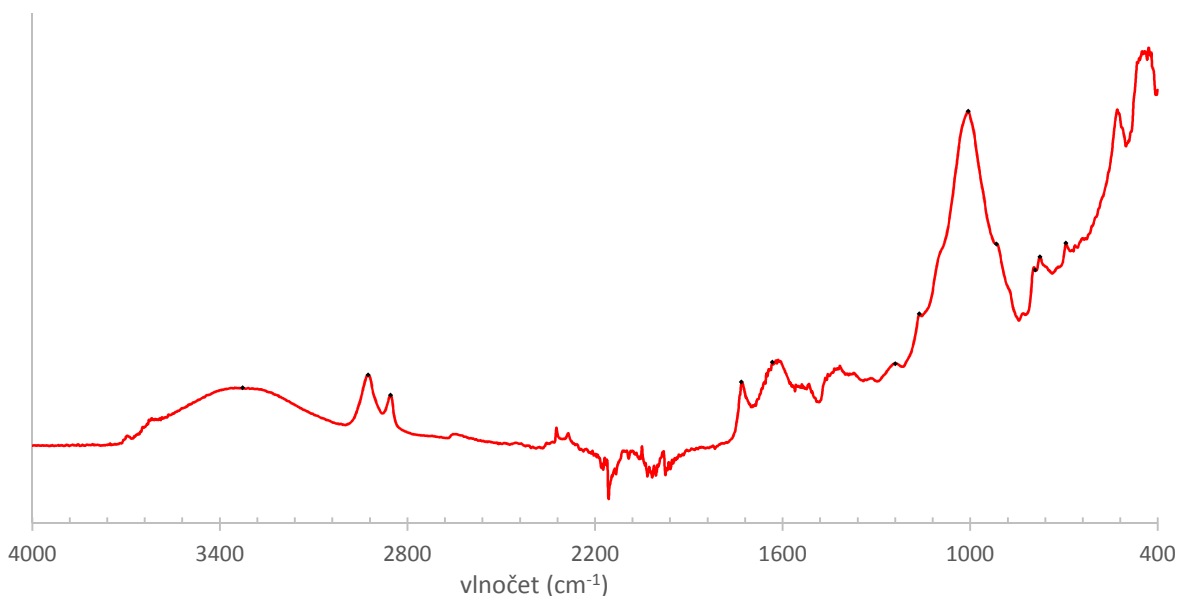


Obrázek 12: Usušený půdní gel na křemíkové destičce.

5.2 Charakterizace půdního gelu

5.2.1 Infračervená spektrometrie

Motivací použití této metody bylo získat informace o přítomnosti funkčních skupin a výskytu organické frakce půdního gelu. Při měření byla použita technika zeslabeného totálního odrazu ATR a difúzní reflektanční infračervená Fourierova transformační spektroskopie DRIFT. Princip ATR metody spočívá v odrazu záření na rozhraní ATR krystalu a vzorku, kde vzorek několikanásobně absorbuje záření určité vlnové délky a tím oslabuje totálně odražené záření. Metoda DRIFT měří difúzně rozptýlené záření. Výsledné ATR spektrum lze vidět na Obrázku 14.



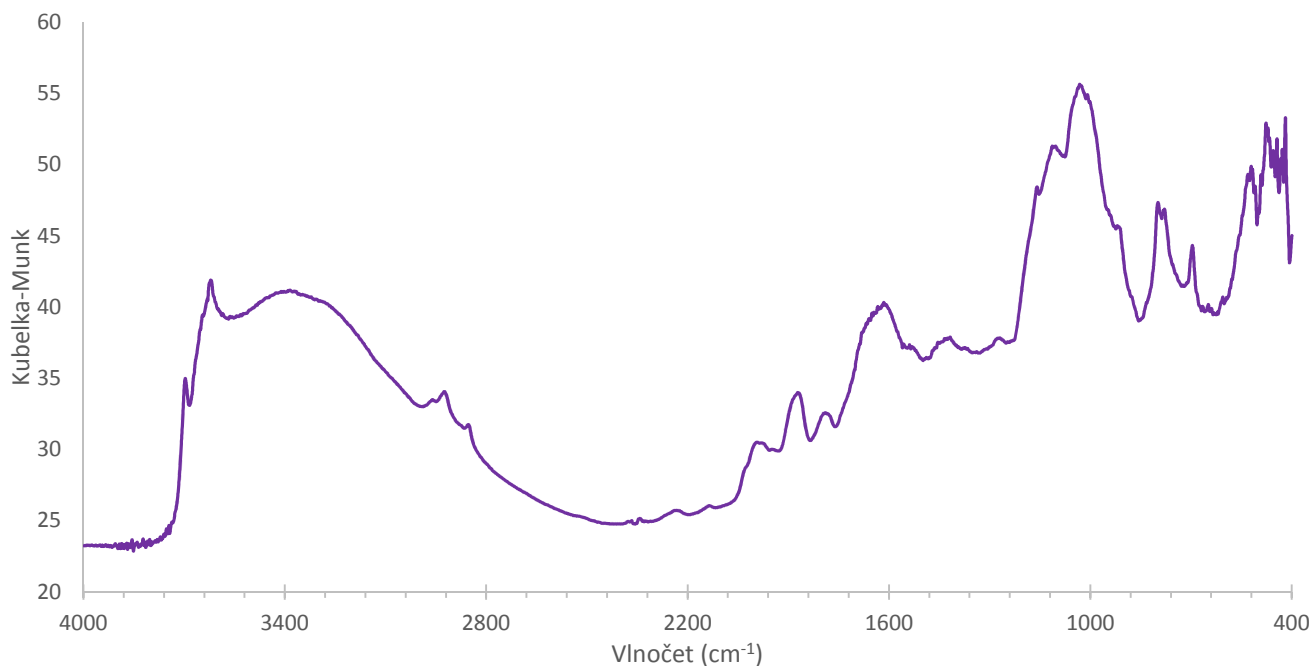
Obrázek 13: Infračervené ATR spektrum půdního gelu.

V ATR spektru je patrný charakteristický pík pro -OH skupinu při vlnočtu $3\,326\text{ cm}^{-1}$. Pro nás důležitý pík při $2\,925\text{ cm}^{-1}$ znázorňuje vibraci skupiny -CH_2 , co potvrzuje také absorpční pás v rozmezí $2\,880\text{--}2\,835\text{ cm}^{-1}$. Stejně tak sousední pík je vibrací skupiny -CH_3 , který byl opět potvrzen absorpcí při vlnočtech od $1\,470\text{--}1\,385\text{ cm}^{-1}$. Okolo oblasti od $1\,900$ do $2\,100\text{ cm}^{-1}$ nelze specifikovat žádné absorpční píky ani pásy, jelikož při těchto vlnočtech absorboval záření diamantový ATR krystal. Další analytický významný pík má hodnotu

1 731 cm^{-1} , který byl vyhodnocen jako vibrace skupiny $\text{C}=\text{O}$, která ve spojení s absorpcí při 1 240 cm^{-1} předurčuje výskyt karboxylové funkční skupiny. Pík při 1 633 cm^{-1} byl určen buď jako vibrace vazby $\text{C}=\text{C}$ a nebo opět jako vibrace karboxylové funkční skupiny $\text{R}-\text{COO}^-$, případně kombinace těchto dvou. Nejvýraznější pík ve spektru při vlnětu 1 006 cm^{-1} doplňuje pík o hodnotě 916 cm^{-1} . Tyto dva píky lze vyhodnotit jako vibrace skupiny $\text{CH}=\text{CH}_2$, ale při těchto vlnětech absorbuje i vazba $\text{Si}-\text{O}$, která by tu mohla být dominantní absorpční skupinou vzhledem k dalším výsledkům. Jediný pík, který by v „otisku palce“ stál za zhodnocení je při 694 cm^{-1} , protože takto vysoká absorbance nahrává vibraci vazby $\text{Al}-\text{O}-\text{Si}$. Vlněty charakteristických píků a k tomu přiřazené funkční skupiny jsou shrnuty v Tabulce 7 [28].

Tabulka 7: Charakteristické píky ATR spektra.

Vlnět (cm^{-1})	Určená funkční skupina
3 326	$-\text{OH}$
2 925	$-\text{CH}_2$
2 854	$-\text{CH}_3$
1 731	$-\text{C}=\text{O}$
1 633	$-\text{C}=\text{C}; -\text{COOH}$
1 006	$-\text{CH}=\text{CH}_2; \text{Si}-\text{O}$
916	
694	$\text{Al}-\text{O}-\text{Si}$



Obrázek 14: DRIFT spektrum půdního gelu.

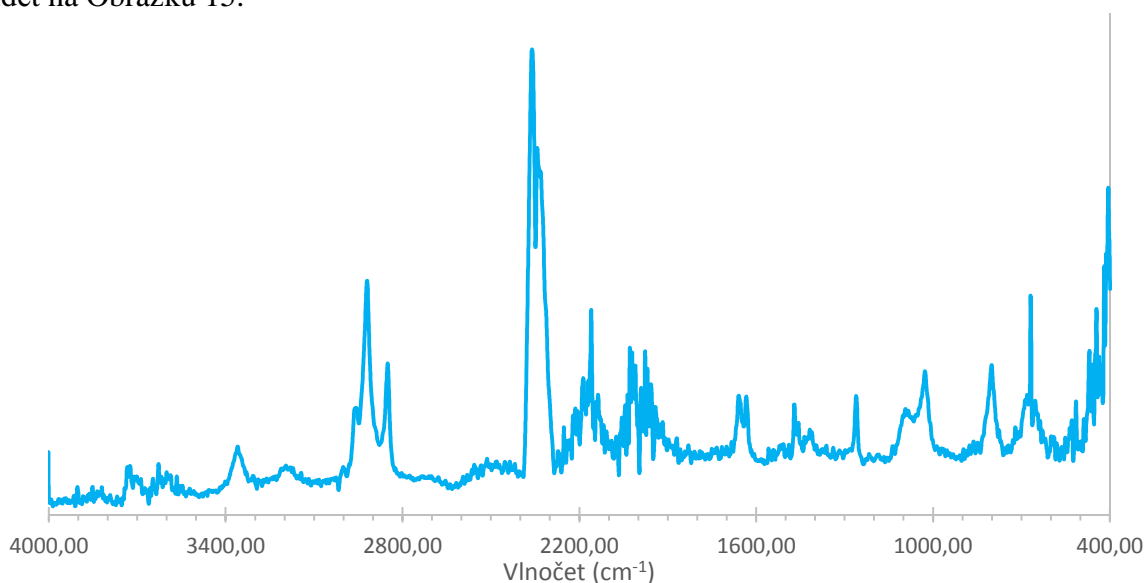
DRIFT spektrum na Obrázku 14 opravuje absorbanci ATR krystalu v rozmezí 1 900 až 2 100 cm^{-1} , kde nyní rozeznáme další pík. Taktéž podává přesnější informace o funkčních skupinách a celkově se zdá být pro půdní vzorky vhodnější při porovnání s ATR technikou.

Ostré píky při 3 620 a 3 696 cm^{-1} naznačují vibraci –OH skupiny z Al–OH a Si–OH struktury. Rameno při 3 326 cm^{-1} je zapříčiněno vibrací skupiny –OH a taktéž se v těchto místech projevují vibrace minerálních struktur. Píky s maximy při 2 925 cm^{-1} a 2 854 cm^{-1} připadají alifatickým skupinám (–CH₂ a –CH₃). Skupinu píků od 1 750 do 1 900 cm^{-1} nejpravděpodobněji zapříčiňuje struktura Al–O z povrchu jílovitých minerálů. Pík s maximem v 1 633 cm^{-1} potvrzuje předešlé tvrzení o skupině –C=C a také opět zastupuje antisymetrickou vibraci –COO[–]. Vibrace při 916 cm^{-1} znázorňuje povrchové funkční skupiny minerálů. V Tabulce 8 nalezneme výsledky z DRIFT spektra [28].

Tabulka 8: Vyhodnocení DRIFT spektra.

Vlnočty (cm^{-1})	Určená funkční skupina
3 696	Al–OH; Si–OH
3 620	
3 326	–OH
2 925	–CH ₂
2 854	–CH ₃
1 750	Al–O
1 900	
1 633	–C=C; –COO [–]
916	Funkční skupiny minerálů

Vytřepáním usušeného půdního gelu do chloroformu jsme sledovali pouze organickou frakci půdního gelu. Vytřepaná přefiltrovaná chloroformová fáze pak byla nakapána na ATR krystal a bylo vyčkáno na úplné odpaření z krystalu. Poté bylo změřeno spektrum, které lze vidět na Obrázku 15.



Obrázek 15: FT-IR spektrum chloroformové fáze.

Vyhodnocení doposud neviditelných píků viz. Tabulka 9.

Tabulka 9: Důležité píky v FT-IR spektru chloroformové fáze.

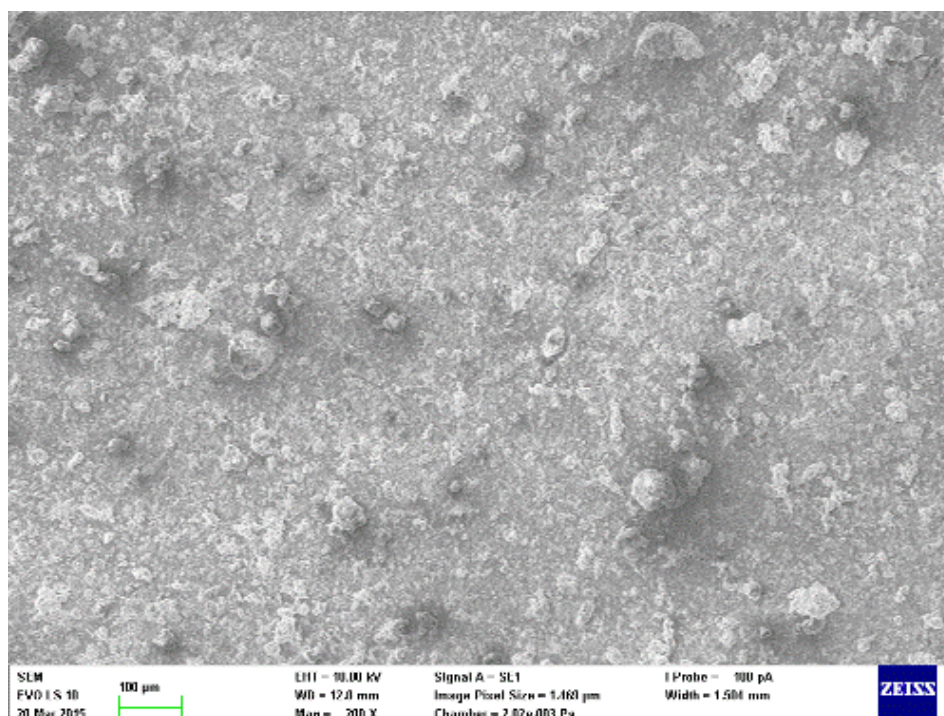
Vlnočet (cm^{-1})	Určená funkční skupina
3 367	$\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$
2 925	$-\text{CH}_2$
2 854	$-\text{CH}_3$
2 364	CO_2
2 159	$\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$
1 633	$-\text{C}=\text{C}; -\text{COOH}$
1 024	$\text{R}-\text{OH}$

Ve většině případů spektrum chloroformové fáze potvrzuje minulé spektra například v obsahu $-\text{CH}_2$ a $-\text{CH}_3$ skupin. Nově byla určena skupina $\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$, která nebyla zřetelná kvůli vysoké absorpci $-\text{OH}$ skupiny při podobných vlnotech. Taktéž další nově určenou skupinou je primární hydroxylová skupina, která měla charakteristický pík při vlnotě $1\,024\text{ cm}^{-1}$ [29].

5.2.2 Ramanova spektrometrie

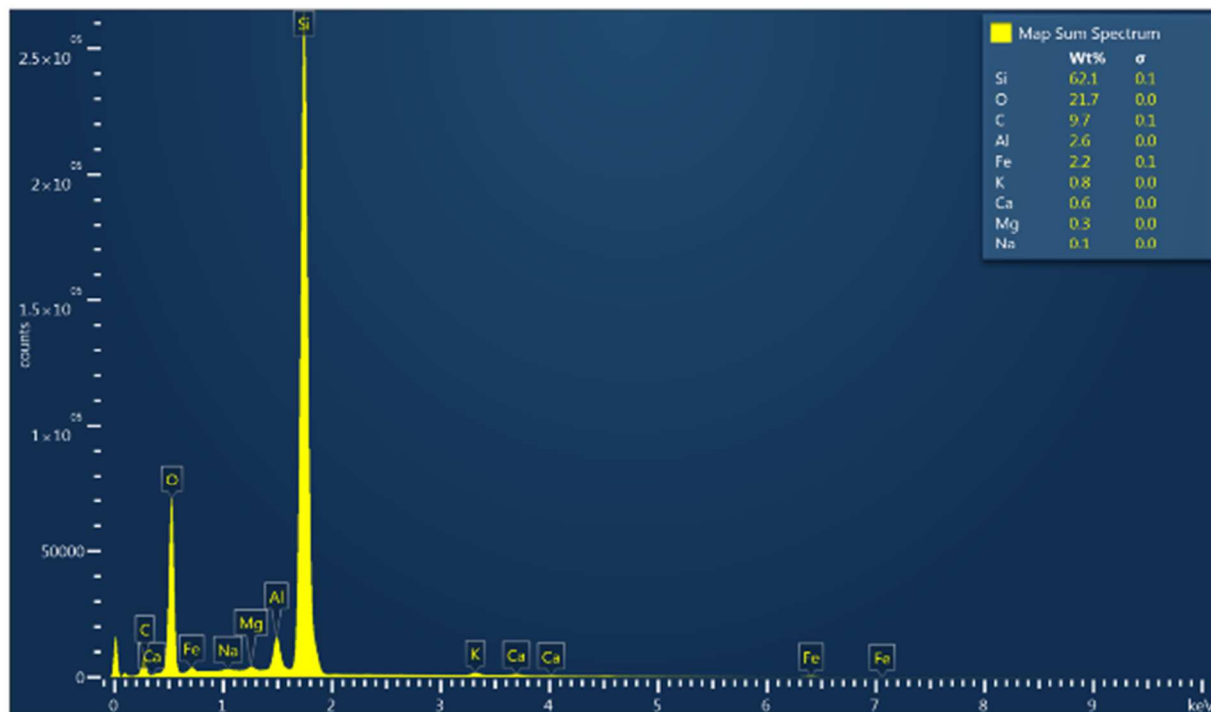
Tato metoda měla poskytnout informaci o nepolárních vazbách jako např.: $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}-\text{C}$, $\text{C}-\text{S}$, které mají v infračervené spektrometrii málo intenzivní absorpci a doplnit IR spektrum a poskytnout tak další informace o struktuře a funkčních skupinách. Bohužel bylo experimentálně ověřeno, že vzorek vykazuje natolik silnou fluorescenci, že na použitém instrumentálním vybavení nebylo možné Ramanské spektrum vzorku stanovit. Vysoká fluorescence je mimo jiné typická pro huminové látky, což by mohlo opět naznačovat důležitou roli těchto látek při tvorbě půdního gelu.

5.2.3 Skenovací elektronová mikroskopie



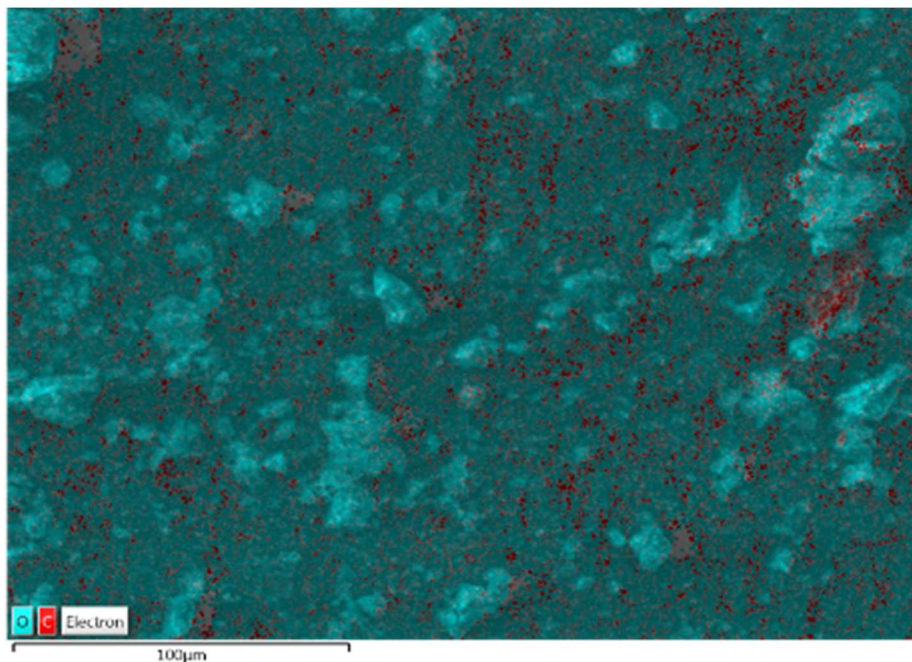
Obrázek 16: Snímek půdního gelu z SEM.

Jeden z nejcennějších přístrojů pro náš výzkum byl a stále je skenovací elektronový mikroskop. Kromě vizualizace mikroskopické struktury vysušeného vzorku gelu (viz Obrázek 16) byl s jeho pomocí identifikován kvantitativní obsah různých prvků a jejich rozložení v ploše půdního gelu. Obsah prvků v půdním gelu lze vidět na Obrázku 17.



Obrázek 17: Procentuální obsah prvků v půdním gelu získaný pomocí SEM.

Vysoký obsah křemíku není překvapivý, stejně tak jako hliníku, hořčíku a potažmo i vápníku, protože tyto prvky tvoří základ většiny minerálních struktur. Primárně sledovaný obsah uhlíku je však diskutabilní, protože zde může být znečištění od uhlíkové pásky použité v konstrukci elektronového mikroskopu, ovšem toto znečištění obvykle nepřesahuje hodnotu 5 %. Pouhým nepřesným odečtem běžného znečištění od celkového obsahu uhlíku získáváme hodnotu 5 % hmotnostního obsahu uhlíku ve vzorku. Kyslík nelze brát jako další ukazatel organické hmoty, protože též tvoří podstatnou část struktury minerálů.

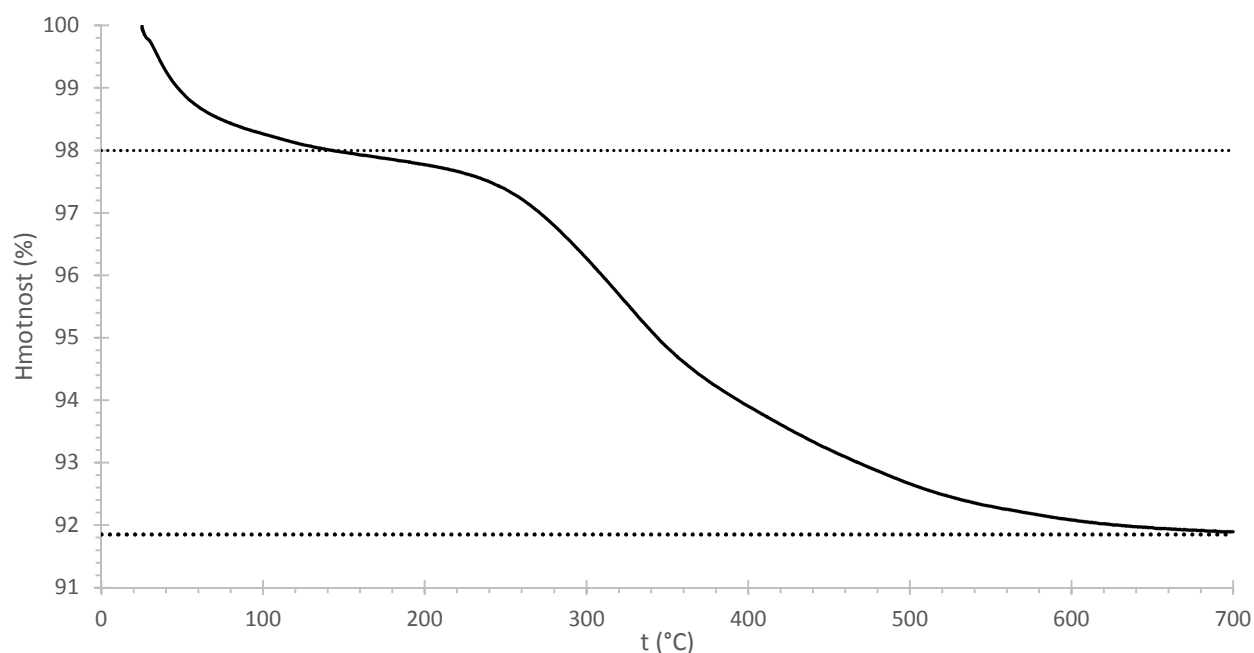


Obrázek 18: Obsah uhlíku a kyslíku

Obrázek 18 ukazuje současně obsah uhlíku a kyslíku. Pohled na rozložení uhlíku nám dokazuje, že hmotnostní obsah není pouze kontaminační a uhlík je zabudován ve struktuře. Atomy uhlíku se téměř striktně vyskytují mimo atomy kyslíku kromě malé oblasti na pravé straně, kde usuzujeme vyšší výskyt organické frakce. Další záznamy z elektronového mikroskopu lze nalézt v příloze.

5.2.4 Termogravimetrická analýza TGA

Při termogravimetrické analýze jsme sledovali úbytek hmotnosti vzorku při postupném zvyšování teploty. Program spalování započal při pokojové teplotě 25 °C a byl ukončen při 700 °C s teplotním krokem 10 °C za minutu za přítomnosti kyslíku. Graf závislosti úbytku hmotnosti na teplotě lze vidět na Obrázku 19.



Obrázek 19: Termogravimetrická analýza.

Bylo zjištěno, že přibližně 8 hm. % vzorku je spalitelných. V těchto 8 % je zahrnuta zbytková vlhkost vysušeného vzorku, která byla určena na 2 % z celého vzorku (úbytek relativní hmotnosti při teplotě 150 °C), a zbývajících 6 % jsou látky spalitelné do 600 °C. Tento obsah příhodně nahrává důkazu organické hmoty nejen z předešlé charakterizace, ale také teplotou, kde byl největší úbytek hmoty. Graf derivace naměřených dat dle teploty ukazuje dva píky okolo 300 °C, což odpovídá dvěma frakcím organických látek o rozdílné termické stabilitě. Podobný bimodální charakter termické stability je typický také pro huminové látky.

5.2.5 Elementární analýza

Tabulka 10: Data z elementární analýzy.

Vzorek	Hmotnost vzorku (mg)	N (hm. %)	C (hm. %)	H (hm. %)
1.	9,820	0,204	1,980	0,592
2.	9,190	0,193	2,124	0,569
3.	9,800	0,196	1,919	0,596
Průměr:	9,603	0,198	2,008	0,586

Pokud zkombinujeme data z elementární analýzy, které lze vidět v Tabulce 9, s hodnotami z TGA, dostaneme procentuální zastoupení prvků C, H, N, O v organické frakci půdního gelu. Hmotnostní procenta prvků v Tabulce 11 jasně ukazují nadpoloviční obsah kyslíku v půdním gelu. V kombinaci s třetinovým obsahem uhlíku a téměř desetinovým obsahem uhlíku lze říci, že v půdním gelu jsou pravděpodobně více zastoupeny fulvinové kyseliny. To lze obhájit vyšší rozpustností FK než HK ve vodě a jejich nízkomolekulární povahou.

Tabulka 11: Procentuální zastoupení prvků C, H, N, O v organické frakci půdního gelu[30].

Prvek	vzorek	FK	HK
hm. % C ^d	33,461	40,7 – 50,6	53,8 – 58,7
hm. % H ^d	9,911	3,8 – 7,0	3,2 – 6,2
hm. % N ^d	3,294	0,9 – 3,3	0,8 – 4,3
hm. % O ^d	53,333	39,7 – 49,8	32,8 – 38,3

Odchylka od standardních hodnot fulvinových i huminových kyselin je výrazná. Jediný prvek, který se nachází v obsahovém rozmezí fulvinových kyselin je dusík. Vyšší obsah kyslíku a vodíku s nízkým obsahem uhlíku nahrává představě o jednoduchých organických strukturách organické frakce. Obě kyseliny použité k porovnání jsou vcelku vysokomolekulární. I když jsou FK právem více zastoupeny, můžeme domnívat, že jsou pouze jedním zástupcem z mnoha organických specií. Je možné, že organická frakce je tvořena pouze rozpustnými „útržky“ organické hmoty, které nebyli v půdě použity pro syntézu huminových sloučenin.

Tabulka 12: Poměr prvků.

Poměr	vzorek
C/O	0,837
C/H	0,281

Čím jsou hodnoty poměrů vyšší, tím větší roli hrají atomy uhlíku v molekulovém složení. Čím více jsou zastoupeny vodíkové atomy, tím je menší počet skupin –CH, =CH₂, –CH₃ a následně vyšší poměr C/H. Atomový poměr C/O v Tabulce 12 udává stupeň oxidace, který klesá s počtem karboxylových, fenolových a hydroxylových skupin. Srovnáním se vzorkem dostáváme jasnou informaci o pravděpodobně vysokém počtu malých alifatických skupin a vcelku vyváženým poměrem mezi alifatickou částí a částí funkčních skupin s kyslíkem [31, 32].

6 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce měla za cíl optimalizovat metodu izolace a další charakterizaci půdního gelu. O tomto nově zrozeném tématu je již několik odborných článků, které ovšem postrádají detailnější pohled. Jeden z důvodů je praktická obtížnost sjednotit vzorky půd, protože půda je velmi rozmanitá nejen ve složení neživé, ale i v její živé části. To nutí vědce hledat univerzální sloučeniny, nebo části půdy, které by měli principálně stejnou roli ve všech půdách. A právě půdní gel, je považován za tuto sloučeninu vyskytující se ve všech půdách a mající v nich podobnou, ne-li stejnou funkci. Tento gel nemůže být charakterizován, stejně jako půda a huminových látky, elementárním složením. K definici toho gelu by měly být použity spíše jeho funkce než prvkové složení. Stejně jako u HL obecně, tak i v tomto případě, je neúčinné pouštět se do zkoumání struktury bez úvahy nad funkcí, protože by to mohlo působit až kontraproduktivně. Hlavní cíl práce by se měl v tomto případě zaměřovat na pochopení podstaty půdního gelu. Kdy a za jakých podmínek je v půdě tvořen. A je v půdě tvořen pouze jeden typ půdního gelu? Tvoří se souvisle nebo po částech? V tuto chvíli nastává mnoho nezodpovězených otázek, jejichž odpovědi nám pomohou pochopit, proč půdní gel vůbec existuje.

Optimalizací metody izolace půdního gelu bylo dosaženo získání téměř čistého gelu. Taktéž byla tato metoda souhlasná s naším názorem o teoretickém uvolnění gelu z částíček půdy tím, že půda si zcela vlastní tendencí kapilárně nasávala potřebné množství vody. Tato voda prostupovala částíčkami půdy a postupně se shromažďovaly útržky půdní gelu, které byly po zalití větším množstvím vody viditelné na hladině a tvořili souvislou vrstvu.

Při pohledu na výsledky charakterizace lze s jistotou říci, že půdní gel byl složen jak z anorganické, tak organické frakce. Anorganická frakce byla pojmuta za významově minoritní složku oproti organické frakci kvůli očekávané funkci organické frakce v půdním gelu. Bylo použito několik analytických metod pro důkaz organické hmoty. V první řadě to byla metoda skenovacího elektronového mikroskopu, která poskytla zprvu nepřesné procentuální množství uhlíku, jako námi uvažovaného zástupce organické hmoty. Metoda, která zpřesnila obsah organické frakce, byla termogravimetrická analýza potažmo elementární analýza. Pomocí termogravimetrické analýzy bylo určeno procentuálně spalitelné množství vzorku na 8 hm. %, kde ovšem 2 % vzorku tvořila voda. Zpřesnění informací o zbylých 6 % poskytla elementární analýza, kterou jsme stanovili obsah prvků C, H, N na téměř 3 %. Doplnující informaci podala infračervená spektrometrie, kde byly určeny nejpravděpodobněji se vyskytující funkční skupiny na povrchu půdního gelu. Jediná metoda, která nenesla ovoce, byla Ramanova spektrometrie, která kvůli vysoké fluorescenci vzorku neposkytla použitelné strukturní informace.

Při sumarizaci výsledků lze říci, že tato práce splnila svůj cíl. Byla úspěšně detekována organická hmota, která je nejspíše odpovědná za strukturu a vlastnosti půdního gelu. Taktéž byly určeny funkční skupiny, které mohou být cenné při dalším zkoumání vlastností. Dá se tvrdit, že tento základní výzkum staví pilíře pro další práci v tématu o půdním gelu. Pokud totiž dokážeme určit jaké látky nebo struktury půdní gel obsahuje, dostanou nás tyto informace od nynějšího prvotního výzkumu na úroveň, kde budeme přemýšlet o praktickém využití půdního gelu v každodenních situacích.

7 SEZNAM CITOVANÉ LITERATURY

- [1] JANSEN, S. A., MALATY, M. a kol.: Structural modeling in humic acids. *Mat. Sci. Eng. C*, 1996, vol. 4, no. 3, pp. 175 – 179.
- [2] STEVENSON, F. 1994. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. 2nd Ed. New York: John Wiley and Sons. ISBN 0-471-59474-1.
- [3] ŠARAPATKA, B. *Pedologie*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého, 1996.
- [4] LANÍK, Josef. *Kniha o půdě 1. Půda a rostlina*. 1. vyd. Praha: Stát. zeměd. nakl., 1960, 259 s.
- [5] JANDÁK, Jiří. *Půdoznalství: genesis, composition, reactions*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2001, 140 s. ISBN 80-715-7559-3.
- [6] FEDOTOV, G. N. a G. V. DOBROVOL'SKII. Possible ways of nanostructure development in soil gels. *Eurasian Soil Science*. 2012, vol. 45, issue 8, s. 811-822. DOI: 10.1134/S1064229312080029.
- [7] DEBANO, L.F. Water repellency in soils: a historical overview. *Journal of Hydrology*. 2000, 231-232, s. 4-32. DOI: 10.1016/S0022-1694(00)00180-3.
- [8] SCHNITZER, F.J., MONREAL C.M. Quo vadis soil organic matter research? *Advances in agronomy*. 2011, vol. 113, p. 139-213.
- [9] VON WANDRUSZKA, Ray. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. *Geochemical Transactions*. vol. 1, issue 1, s. 10-. DOI: 10.1186/1467-4866-1-10. Dostupné z: <http://www.geochemicaltransactions.com/content/1/1/10>.
- [10] PÉDROT, Mathieu, Aline DIA a Mélanie DAVRANCHE. Dynamic structure of humic substances: Rare earth elements as a fingerprint. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2010, vol. 345, issue 2, s. 206-213. DOI: 10.1007/springerreference_221871.
- [11] PICCOLO, A, PICCOLO C. SAIZ-JIMENEZ. THE SUPRAMOLECULAR STRUCTURE OF HUMIC SUBSTANCES: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Soil Science*. 2001, vol. 166, issue 11, v-44. DOI: 10.1016/b978-1-85573-807-2.50003-5.
- [12] SKOKANOVÁ, M., DERCOVÁ, K. Humínové kyseliny. Pôvod a štruktúra. *Chemické listy*. 2008, č. 102, s. 262–265.
- [13] KAPUSTIN, E. G., V. M. BZHEZOVSKII, R. Ya. MUSYANOVICH a Yu. G. SHERMOLOVICH. *Příprava směsných koloidů*. ISBN 3–527–302204–4.

- [14] GRASSET, Laurent, Cédric GUIGNARD a André AMBLÈS. Free and esterified aliphatic carboxylic acids in humin and humic acids from a peat sample as revealed by pyrolysis with tetramethylammonium hydroxide or tetraethylammonium acetate. *Organic Geochemistry*. 2002, vol. 33, issue 3, s. 181-188. DOI: 10.1016/s0146-6380(01)00150-4.
- [15] STEVENSON, F., J.: *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. Willey-Interscience, USA, 1982.
- [16] MIKULÁŠKOVÁ, B, B LAPČÍK a I MAŠEK. Lignit- struktura, vlastnosti a použití. *Chemické listy*. 1997, roč. 91, s. 160-168.
- [17] CHULTEN, H.-R. a M. SCHNITZER. Three-Dimensional Models for Humic Acids and Soil Organic Matter. *Naturwissenschaften*. 1995, vol. 82, issue 11, s. 487-498. DOI: 10.1007/s001140050222.
- [18] VESELÁ, L, M KUBAL, J KOZLER a P INNEMANOVÁ. Struktura a vlastnosti přírodních huminových látek typu oxihumolitu. *Chemické listy*. 2005, roč. 99, s. 711-717.
- [19] ŽÁČEK, L. *Hydrochemie*. Vyd. 1. V Brně: VUTIUM, 1998. ISBN 80-214-1167-8.
- [20] STEVENSON, F. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. 2nd Ed. New York: John Wiley and Sons, c1994, s. 469. ISBN 0-471-59474-1.
- [21] KLUČÁKOVÁ M., PEKAŘ M.: *Solubility and dissociation of lignitic humic acids in water suspension*. Colloids Surf., A, 2005, vol. 252, no. 2-3, p. 157-164. ISSN 0927-7757.
- [22] HOLOUBEK, I.. *RECETOX: Materiály ke stažení : Chemie životního prostředí I. - IV.* [online]. 2006 [cit. 2015-03-27]. Dostupný z WWW:<<http://www.recetox.muni.cz/index.php?s=studium&f=download>>.
- [23] GROSSMAN, R. B. a W. C. LYNN. Gel-Like Films that May Form at the Air-Water Interfaces in Soils1. *Soil Science Society of America Journal*. 1967, vol. 31, issue 2. DOI: 10.2136/sssaj1967.03615995003100020032x.
- [24] FEDOTOV, G. N., O. N. BYSTROVA a E. A. MARTYNKINA. On the nanostructural organization of soils. *Doklady Chemistry*. 2009, vol. 425, issue 2, s. 69-72. DOI: 10.1134/S0012500809040016.

- [25] NAZAROVA, A. E., G. N. FEDOTOV a V. I. PUTLYAEV. Minerals in gel films: Division of Veterans Affairs, Department of Human Services performance audit. *Doklady Chemistry*. 2009, vol. 424, issue 2, s. 23-26. DOI: 10.1134/S0012500809020013.
- [26] FEDOTOV, G. N., V. I. PUTLYAEV, T. F. RUDOMETKINA a D. M. ITKIS. Nanostructural organization of soils. *Doklady Chemistry*. 2008, vol. 422, issue 2, s. 265-268. DOI: 10.1134/S0012500808100066.
- [27] FEDOTOV, G. N., D. M. ITKIS, V. I. PUTLYAEV, G. G. OMEL'YANYUK a M. V. NIKULINA. Soil gels by atomic force microscopy. *Doklady Chemistry*. 2008, vol. 421, issue 1, s. 168-170. DOI: 10.1134/S0012500808070045.
- [28] DICK, D. P., J. H. Z. SANTOS a E. M. FERRANTI. Chemical characterization and infrared spectroscopy of soil organic matter from two southern brazilian soils. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 2003, vol. 27, issue 1, s. 29-39. DOI: 10.1590/s0100-06832003000100004.
- [29] ROEGES, Noel P. *A guide to the complete interpretation of infrared spectra of organic structures*. New York: Wiley, c1994.
- [30] PEÑA- MÉNDEZ, E. M., HAVEL, J. a PATOČKA, J.: Humic substances – compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment and biomedicine. *J. Appl. Biomed.* 3 (2005), s. 13-24.
- [31] TAN, Kim H. *Humic matter in soil and the environment: principles and controversies*. New York: Marcel Dekker, 2003, 386 s. ISBN 08-247-4272-9.
- [32] GAFFNEY, Jeffrey S. 1996. *Humic and Fulvic Acids: Isolation, Structure, and Environmental Role*. Washington: American Chemical Society. ISBN 0-8412-3468-x.

8 SEZNAM ZTRATEK

AFM	Mikroskopie atomárních sil (Atomic Force Microscopy)
ATR	Zeslabený úplný odraz (Attenuated Total Reflectance)
DRIFT	Furierova transformace difúzně rozptýleného odrazu (Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform)
EPMA	Elektronový mikroskopický analyzátor
FK	Fulvinové kyseliny
HL	Huminové látky
HK	Huminové kyseliny
HU	Humin
IR	Infračervená spektroskopie (Infrared)
SEM	Skenovací elektronový mikroskop
TGA	Termogravimetrická analýza